

Recherches sur l'*Oryctes monoceros* Ol. en Côte-d'Ivoire

II. — Essai de lutte biologique avec le virus *Rhabdionvirus oryctes* ⁽¹⁾

J. F. JULIA (2) et D. MARIAU (3)

Résumé. — Le *Rhabdionvirus oryctes* a été introduit avec succès dans différentes îles du Pacifique Sud pour lutter contre *Oryctes rhinoceros*. Des essais similaires ont été réalisés, d'abord au laboratoire de Darmstadt puis en Côte-d'Ivoire, sur deux espèces africaines nuisibles au cocotier *O. monoceros* et *O. boas*, la première ayant de beaucoup la plus grande incidence économique. Descriptions des expériences avec du matériel viral provenant de larves virosées de *O. rhinoceros* puis de larves d'*O. boas* et *monoceros*. Symptomatologie de la maladie. Elevages individuels ou en groupe. *O. boas* montre une sensibilité au virus voisine de celle de *O. rhinoceros*. On obtient en élevage une mortalité voisine de 100 p. 100 entre 1 et 2 mois suivant la dose virale mélangée au milieu d'élevage. L'espèce *monoceros* est par contre beaucoup moins sensible et, même à des doses extrêmement élevées, les larves ne présentent pas les symptômes typiques de la maladie bien que l'on constate une certaine mortalité. La descendance d'adultes issus de larves élevées dans un milieu virosé ne présente aucune anomalie. Compte tenu de ces résultats, les essais en champs n'ont pas été entrepris.

Mots clés : Cocotier, *Oryctes monoceros*, *O. boas*, Lutte biologique, *Rhabdionvirus oryctes*, Elevages individuels, Elevage en masse, Symptomatologie, Virulence, Côte-d'Ivoire.

Le virus *Rhabdionvirus oryctes* découvert par Huger en 1964 [1] en Malaisie fut introduit avec succès aux Samoa Occidentales dans le cadre du projet P. N. U. D./F. A. O. sur l'espèce asiatique *Oryctes rhinoceros*. Le virus tue rapidement les larves de cette espèce, il écourte la vie imaginaire et rend les adultes pratiquement stériles [2-3]. L'adaptation de ce virus sur les *Oryctes* africains pouvait donc présenter un grand intérêt.

Dans les conditions de basse Côte-d'Ivoire, deux espèces sont nuisibles au cocotier : *O. monoceros* qui gîte dans toutes sortes de matières végétales en décomposition et *O. boas* qui ne se reproduit que dans le fumier et les gadoues. *O. monoceros* est de loin l'espèce principale, *O. boas* n'est présent qu'aux environs des zones habitées. Les résultats des principaux essais réalisés sont présentés ci-après.

I. — ESSAIS RÉALISÉS EN EUROPE

Les premiers essais ont été réalisés au laboratoire de Darmstadt (4) d'une part sur des larves de *O. rhinoceros* qui provenaient des élevages du laboratoire de Lutte Biologique de La Minière (I. N. R. A.-France) et d'autre part sur des larves d'*O. monoceros* introduites en Côte-d'Ivoire.

Essai n° 1 sur *O. rhinoceros* et *O. monoceros*.

On a mélangé au milieu d'élevage nécessaire à 70 larves de 3^e stade (L 3) (environ 9 l de bois avec housse) le broyat obtenu avec 5 cadavres de L 3 de *O. rhinoceros* virosées, conservées au congélateur. On a élevé individuellement 20 L 3 de l'espèce asiatique et 50 L 3 de *O. monoceros* dans ce mélange.

Dès la première semaine les larves de *O. rhinoceros* ont présenté une nette transparence au niveau du

thorax et de la moitié antérieure de l'abdomen. Le corps de ces larves est devenu flasque alors qu'elles cessaient de s'alimenter et que les fèces devenaient liquides. En moins de 3 semaines les larves de *O. rhinoceros* sont mortes, souvent après avoir présenté une évagination de la partie terminale de l'abdomen.

Durant la même période seulement 15 larves de *O. monoceros* (30 p. 100) ont semblé montrer les débuts de symptômes de la virose. Au bout de 50 jours 70 p. 100 des larves de l'espèce africaine sont mortes en présentant des symptômes plus ou moins comparables à ceux de la maladie. Sur les adultes survivants, les examens au microscope électronique réalisés par le Dr Huger ne révélaient pas de traces nettes du virus contrairement à ce qu'il avait toujours constaté sur les adultes de *O. rhinoceros* provenant de larves ayant survécu à des inoculations.

Essai n° 2 sur *O. rhinoceros* et *O. monoceros*.

Il s'agissait d'une répétition du premier essai mais la moitié des larves de chaque espèce avaient été inoculées par injection intra-cœlomique d'une solution aqueuse préparée avec des larves virosées.

Dans tous les cas, la mortalité due au virus a été de 100 p. 100 en 15 jours sur les larves de *O. rhinoceros* alors que sur *O. monoceros* on n'a constaté que 15 p. 100 de cas « suspects » au bout de 60 jours. Ces premiers essais montraient donc que les larves de *O. monoceros* étaient beaucoup moins sensibles au virus que celles de *O. rhinoceros*.

II. — ESSAIS RÉALISÉS AU LABORATOIRE DE PORT-BOUET EN CÔTE-D'IVOIRE

Le principe de ces essais a consisté à comparer la sensibilité des larves des deux espèces d'*Oryctes*, à étudier et à essayer d'augmenter la virulence du *Rhabdionvirus oryctes* sur *O. monoceros* en sélectionnant les larves de cette espèce qui présentaient les symptômes les plus marqués. Ne sont donnés ici que les résultats des principaux essais d'inoculation par ingestion. Le substrat d'élevage pour tous ces essais a été du bois de cocotier décomposé.

(1) Communication présentée à la 4^e Session technique de la F. A. O. sur la production, la protection et le traitement des cocotiers, à Kingston, Jamaïque (sept. 1975), dont la première partie a paru dans le numéro de février 1976 d'*Oléagineux*.

(2) Département Entomologie de l'I. R. H. O., station de Port-Bouet (Côte-d'Ivoire).

(3) Département Entomologie de l'I. R. H. O., station de La Mé (Côte-d'Ivoire).

(4) Il nous est agréable de renouveler nos remerciements au Dr Huger pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire.

Essai n° 3 sur *O. monoceros*.

Un broyat de 10 L 3 virosées de *O. rhinoceros* a été mélangé au milieu nécessaire à l'élevage de 20 L 3 et 24 L 2 de *O. monoceros*. Un témoin également composé de 20 L 3 et 24 L 2 de cette espèce a été élevé sans inoculation. Les résultats sur la mortalité totale en 90 jours sont donnés dans le tableau I.

TABLEAU I. — **Inoculation de *Rhabdionvirus* sur *O. monoceros*.**
(*Inoculation of Rhabdionvirus on O. monoceros*)

Objets (Objects)	Sujets inoculés (Subjects inoculated)	Sujets témoins (Control subjects)	Mortalité compensée (Adjusted mortality)
L 2 <i>O. monoceros</i> . .	79 p. 100	59 p. 100	49 p. 100
L 3 <i>O. monoceros</i> . .	100 p. 100	10 p. 100	100 p. 100

En fait, aucune larve n'a présenté de symptômes caractéristiques, 20 larves (10 L 3 et 10 L 2) sont devenues légèrement transparentes.

Essai n° 4 sur *O. boas*.

Un broyat de 10 L 3 virosées de *O. rhinoceros* a été mélangé au milieu d'élevage de 36 larves de *O. boas* (20 L 3 et 16 L 2). Dans les deux cas on a obtenu 90 p. 100 de mortalité, incontestablement due au virus, en 3 semaines et 100 p. 100 en 60 jours.

Essai n° 5 sur *O. boas*.

Cet essai comprenait trois objets :

- 1) 40 L 3 de *O. boas* inoculées dans un milieu contenant 10 L 3 de *O. boas* virosées broyées,
- 2) 20 L 3 de *O. boas* inoculées de la même manière

dans un milieu contenant 20 larves de *O. monoceros* « suspectes »,

- 3) 20 L 3 de *O. boas* ont servi de témoin.

Toutes les larves du premier lot sont mortes virosées en 17 jours. On a obtenu 80 p. 100 de virose dans le second lot, mais en 90 jours. Aucun cas de virose n'a été constaté sur le témoin. Il apparaissait donc que *O. boas* présente une bonne sensibilité au virus. Le diagnostic de la virose sur *O. monoceros* s'avérait beaucoup plus délicat à faire ; le nombre d'individus « suspects » restait faible malgré les longs délais d'observation. Ces larves de *O. monoceros* « suspectes » peuvent transmettre le germe mais avec beaucoup moins de virulence.

Essai n° 6 sur *O. boas* et *O. monoceros*.

Cet essai comprenait six objets :

- 1) 40 L 2 de *O. monoceros* inoculées,
- 2) 20 L 3 de *O. monoceros* inoculées,
- 3) 20 L 3 de *O. boas* inoculées,
- 4) 20 L 3 de *O. monoceros* : témoin non inoculé,
- 5) 20 L 3 de *O. boas* : témoin non inoculé,
- 6) 40 L 2 de *O. monoceros* : témoin non inoculé.

Le milieu d'élevage des lots inoculés contenait au départ un broyat de 25 L 3 de *O. boas* virosées. Les résultats sur la mortalité totale sont donnés dans le tableau II.

Malgré un effet de l'ordre de 70 p. 100 dû à l'inoculation, il n'y a pas eu de cas de virose caractérisé et les cas « suspects » de viroses représentaient 3 à 4 p. 100 des larves dans le cas de *O. monoceros*. Il n'a fallu que 20 jours pour obtenir une mortalité de 100 p. 100 des larves de *O. boas* alors que l'on n'obtenait que 70 p. 100 de mortalité en 3 à 4 mois avec *O. monoceros*.

TABLEAU II. — **Sensibilité différente au *Rhabdionvirus* entre *O. boas* et *O. monoceros***
(*Difference in sensitivity to Rhabdionvirus between O. boas and O. monoceros*)

Objets (Objects)	Lots inoculés (Inoculated lots)	Lots témoin (Control lots)	Mortalité compensée (Adjusted mortality)	Délai d'obtention des résultats (Time taken to obtain results)
L 3 <i>O. monoceros</i>	80 p. 100	30 p. 100	71 p. 100	90 jours (days)
L 2 <i>O. monoceros</i>	85 —	55 —	67 —	121 —
L 3 <i>O. boas</i>	100 —	20 —	100 —	20 —

Essai n° 7 : Inoculations sur *O. monoceros* à partir de larves de *O. monoceros* présumées virosées.

Le principe a consisté à faire une série d'inoculations sur des larves *O. monoceros* avec des doses très fortes d'inoculum. N'ont été retenues comme présumées virosées que les larves présentant une bonne transparence. Au total on n'en a obtenu qu'une vingtaine après inoculation de plusieurs centaines de larves. La technique a consisté à élever les larves pendant une semaine avec pour seule nourriture l'équivalent d'un quart de cadavre de *O. monoceros* présumé virosé, broyé, et d'un volume égal de milieu d'élevage. Un total de 80 jeunes L 3 de *O. monoceros* ont ainsi été testées comparativement à 40 autres larves inoculées de la même façon mais avec un milieu contenant des larves de *O. boas* virosées. Un lot de 40 jeunes L 3 de *O. monoceros* a été élevé selon la même technique

mais sans matériel viral dans le milieu. Les résultats sur la mortalité cumulée en 90 jours ont été les suivants :

L 3 <i>monoceros</i> inoculées avec matériel viral	
<i>monoceros</i>	80 p. 100
effet compensé	64 p. 100
L 3 <i>monoceros</i> inoculées avec matériel viral	
<i>boas</i>	85 p. 100
effet compensé	73 p. 100
L 3 <i>monoceros</i> non inoculées	45 p. 100

Il n'y a eu aucun cas de symptômes typiques. L'effet compensé obtenu laisse à penser que le virus ne peut évoluer normalement que sur quelques individus très sensibles mais qu'il peut, à forte dose, affaiblir les larves de *O. monoceros*. Le passage du virus sur *O. monoceros* ne se traduit pas par une adaptation du virus, la virulence n'étant pas supé-

rieure par la suite. Il semblerait même que l'on constate une diminution de la virulence du parasite après passage sur *O. monoceros*.

Essai n° 8 : Comparaison de la sensibilité au virus des larves *O. monoceros* et *O. boas* dans les conditions d'un élevage de masse. Incidence du virus sur les individus inoculés parvenus au stade imaginal.

L'essai avait pour but de faire une dernière comparaison entre les deux espèces africaines dans les conditions d'un élevage de masse où les manipulations des insectes étaient réduites à une fréquence mensuelle (dans les autres essais les larves étaient examinées chaque jour). Le milieu d'élevage des lots inoculés comprenait un nombre de cadavres broyés de L 3 de *O. boas* égal à celui des larves mises en élevage mais la concentration était relativement plus faible que dans les essais précédents car on a utilisé en moyenne 1 litre de milieu par larve au lieu de 150 ml dans les élevages individuels. Les récipients utilisés étaient des seaux de 10 l et de 25 l.

a. — Résultats sur *O. boas*.

120 L 3 ont été élevées en milieu inoculé et 55 L 3 en milieu sans matériel viral. Au bout de 90 jours on observe une mortalité quasi totale (Tabl. III).

Les deux nymphes obtenues dans l'objet inoculé sont mortes. Les 43 nymphes obtenues dans le témoin ont donné 37 adultes normaux.

b. — Résultats sur *O. monoceros*.

210 L 3 ont été inoculées et 75 ont servi de témoin. Même au bout de 4 mois la mortalité reste très faible (Tabl. IV).

Dans l'objet inoculé, 109 nymphes ont été obtenues (52 p. 100) contre 45 (60 p. 100) dans le témoin. Ces nymphes ont donné respectivement 32 adultes dont 15 ♀ dans le lot inoculé et 21 adultes dont 10 ♀ dans le lot témoin. La mortalité totale a donc été de 85 p. 100

dans l'objet traité contre 72 p. 100 dans l'objet témoin, la mortalité compensée n'a pas atteint les 50 p. 100. Dans les deux cas on a examiné la progéniture sur les 100 premiers œufs pondus. Ils ont donné 28 L 3 dans le lot issu de l'objet inoculé et 31 L 3 dans le lot issu de l'objet témoin. On n'a pas constaté de virose dans cette génération. Cet essai confirme les résultats précédents et montre que les adultes issus de larves élevées dans un milieu virosé ont une descendance normale.

Quelques essais ont été réalisés sur une troisième espèce présente en Côte-d'Ivoire : *O. owariensis*, mais qui n'a cependant aucune incidence économique sur le cocotier. Du point de vue sensibilité du virus, cette espèce s'est montrée intermédiaire entre les *Oryctes monoceros* et *boas*.

CONCLUSION

Des essais d'inoculation du virus *Rhabdionvirus oryctes* Huger ont permis de mettre en évidence une assez bonne sensibilité de l'espèce *O. boas* et une mauvaise sensibilité de l'espèce *O. monoceros*.

Sur cette dernière espèce qui est de très loin la plus importante dans les cocoteraies d'Afrique de l'Ouest, le virus a sans doute pour effet d'affaiblir les larves et de les rendre plus sensibles à d'autres facteurs naturels de mortalité. Cependant le virus n'arrive certainement pas à se développer normalement car les symptômes caractéristiques de la maladie se manifestent très rarement et les adultes issus des larves inoculées ne présentent pas d'anomalies. Ce dernier point a du reste été mis en évidence par des examens au microscope électronique réalisés à Darmstadt. Le virus ne semble donc pas pouvoir s'adapter sur *O. monoceros*. Contrairement à ce qui a été constaté aux Samoa Occidentales sur *O. rhinoceros* il n'apparaît donc pas possible de lutter contre *O. monoceros* en disséminant le virus. Cette méthode pourrait, par contre, donner de bons résultats sur *O. boas* mais l'importance économique de cet insecte ne justifie pas une telle tentative.

TABLEAU III. — Importance de la mortalité sur *O. boas* en élevage de masse
(Mortality rate on *O. boas* in mass breeding)

Nombre de jours après mise en élevage (No. of days from the start of raising)	Mortalité sur lot inoculé (Mortality on inoculated lot)	Mortalité sur lot témoin (Mortality on control lot)	Mortalité compensée (Adjusted mortality)
30 jours (days)	89 p. 100	11 p. 100	88 p. 100
60 —	94 —	18 —	93 —
90 —	98 —	22 —	97 —

TABLEAU IV. — Importance de la mortalité sur *O. monoceros* en élevage de masse
(Mortality rate on *O. monoceros* in mass breeding)

Nombre de jours après mise en élevage (No. of days from the start of raising)	Mortalité sur lot inoculé (Mortality on inoculated lot)	Mortalité sur lot témoin (Mortality on control)	Mortalité compensée (Adjusted mortality)
30 jours (days)	9 p. 100	1 p. 100	8 p. 100
60 —	13 —	5 —	8 —
90 —	28 —	23 —	6 —
120 —	48 —	40 —	13 —

BIBLIOGRAPHIE

[1] HUGER A. M. (1966). — A virus disease of the Indian rhinoceros beetle *Oryctes rhinoceros* (Linnaeus), caused by a new type of insect virus, *Rhabdionvirus oryctes*. *J. Invert. Path.*, 8, n° 1, p. 38-51.

[2] U. N. D. P./F. A. O. — Project for research on the control of the coconut palm Rhinoceros beetle. Reports of the project manager Apia 1966-1973.

[3] HAMMES C., MONSARRAT (1974). — Recherches sur *Oryctes rhinoceros* L. *Cah. ORSTOM, Ser. Biol.*, n° 22.

SUMMARY

Research on *Oryctes monoceros* Ol. in Ivory Coast. II. — Trial of biological Control by virus *Rhabdionvirus oryctes*.

J. F. JULIA and D. MARIAU, *Oléagineux*, 1976, **31**, N° 3, p. 113-117.

Rhabdionvirus oryctes was successfully introduced into different islands in the South Pacific to control *Oryctes rhinoceros*. Similar trials were carried out, first in the laboratory at Darmstadt, then in the Ivory Coast, on two African species harmful to the coconut, *O. monoceros* and *O. boas*, the former having by far the greatest economic incidence. Descriptions of the experiments with viral material produced from virus-infected larvae of *O. rhinoceros* and then *O. boas* and *monoceros* larvae are given, together with the symptomatology of the disease. The insects were raised individually or in groups. *O. boas* showed a sensitivity to the virus close to that of *O. rhinoceros*. In artificial breeding a mortality of nearly 100 p. 100 is obtained between 1 and 2 months after the viral dose mixed with the breeding medium. On the other hand, the species *monoceros* is much less sensitive, and even at extremely high doses the larvae do not present the typical symptoms of the disease, although a certain mortality is noted. The progeny of adults developed from larvae raised in a virus-infected medium do not suffer from any anomalies. In view of these results field trials have not been undertaken.

RESUMEN

Investigaciones sobre *Oryctes monoceros* Ol. en Costa de Marfil. II. — Ensayo de lucha biológica con el virus *Rhabdionvirus oryctes*.

J. F. JULIA y D. MARIAU, *Oléagineux*, 1976, **31**, N° 3, p. 113-117.

La introducción de *Rhabdionvirus oryctes* en diversas islas del Pacífico Sur para luchar contra *Oryctes rhinoceros* ha sido un acierto. Se realizó ensayos similares, primero en el laboratorio de Darmstadt y luego en Costa de Marfil, en dos especies africanas parásitas del cocotero, *O. monoceros* y *O. boas*, teniendo la primera la mayor incidencia económica y con mucho. Se describen las experiencias con material viral procedente de larvas con virosis de *O. rhinoceros*, y luego de larvas de *O. boas* y *monoceros*. Sintomatología de la enfermedad. Crías individuales o en grupo. *O. boas* tiene una sensibilidad al virus próxima a la de *O. rhinoceros*. Se consigue con las crías una mortalidad próxima al 100 % entre el 1er y el 2do mes según la dosis viral mezclada con el medio de cría. En cambio la especie *monoceros* tiene una sensibilidad muy inferior, e incluso en dosis muy fuertes las larvas no muestran los síntomas típicos de la enfermedad, aunque se observa cierta mortalidad. La descendencia de adultos procedentes de larvas criadas en un medio con virosis no muestra ninguna anomalía. En la base de estos resultados, se emprendió ensayos de campo.

Research on *Oryctes monoceros* Ol. in Ivory Coast. II. — Trial of biological Control by virus *Rhabdionvirus oryctes* ⁽¹⁾

J. F. JULIA (2) and D. MARIAU (3)

The virus *Rhabdionvirus oryctes* discovered by Huger in 1964 [1] in Malaysia was introduced with success into Western Samoa under the U. N. D. P.-F. A. O. project on the Asian species *Oryctes rhinoceros*. The virus kills the larvae of this species rapidly, shortens the imaginal life and renders the adults practically sterile [2, 3]. The adaptation of this virus to African *Oryctes* could therefore be of great interest.

In the conditions of the lower Ivory Coast, two species are harmful to coconut: *O. monoceros*, which breeds in all sorts of decaying plant material, and *O. boas* which only reproduces itself in manure and sludge. *O. monoceros* is by far the most prevalent species; *O. boas* is only present close to inhabited areas. The results of the principal trials carried out are given hereunder.

I. — TRIALS CARRIED OUT IN EUROPE

The first trials were run in the laboratory at Darmstadt (4), at once on *O. rhinoceros* larvae raised in the Biological Control laboratory of La Minière (I. N. R. A., France) and on *O. monoceros* larvae introduced from the Ivory Coast.

Trial 1 on *O. rhinoceros* and *O. monoceros*.

The breeding medium required for 70 3rd stage (L 3) larvae (about 9 l of wood with cowdung) was mixed with the ground-up bodies of 5 L 3 *O. rhinoceros*, preserved in the freezer. Twenty L 3 of the Asian species and 50 L 3 of *O. monoceros* were raised in this mixture.

Already in the first week the *O. rhinoceros* larvae presented a marked transparency at thorax level and in the forepart of

the abdomen. Their bodies became limp, whilst they ceased to feed and the excreta became liquid. In less than three weeks the larvae were dead, often after the appearance of an evagination at the terminal part of the abdomen.

During the same period only 15 *O. monoceros* larvae (30 p. 100) seemed to show the early symptoms of the virosis. After 50 days 70 p. 100 of the larvae of the African species were dead after manifesting symptoms more or less comparable to those of the disease. On the surviving adults electron microscope examinations made by Dr Huger revealed no distinct traces of the virus, contrary to what has always been noted with *O. rhinoceros* adults coming from larvae which have survived inoculations.

Trial 2 on *O. rhinoceros* and *O. monoceros*.

This was a replication of the first trial, but half the larvae of each species had been inoculated by intra-coelomic injection with an aqueous solution prepared with virus-infected larvae.

In all cases mortality due to the virus was 100 p. 100 in 15 days on *O. rhinoceros* larvae whereas on *O. monoceros* only 15 p. 100 «suspect» cases were noted at the end of 60 days. These first trials thus showed that the *O. monoceros* were much less sensitive to the virus than those of *O. rhinoceros*.

II. — TRIALS CARRIED OUT AT THE LABORATORY IN PORT-BOUET, IVORY COAST

The principle of these trials was to compare the sensitivity of the larvae of the two *Oryctes* species, to study and try to increase the virulence of *Rhabdionvirus oryctes* on *O. monoceros* by selecting the larvae of this species which present the most marked symptoms. Only the results of the main trials of inoculation by ingestion are given here. The breeding substrate for all these trials was decayed coconut wood.

Trial 3 on *O. monoceros*.

A ground solution of 10 virus-infected *O. rhinoceros* L 3 was mixed with the breeding medium required for 20 L 3 and 24 L 2 of *O. monoceros*. A control also composed of 20 L 3

(1) Communication presented to 4th Session of the F. A. O. technical working party on coconut production, protection and processing, at Kingston, Jamaica (Sept. 1975). The first part was published in *Oléagineux* (February 1976).

(2) Entomology Department of the I. R. H. O., Port-Bouet Station (Ivory Coast).

(3) Entomology Department of the I. R. H. O., La Mé Station (Ivory Coast).

(4) We have pleasure in renewing our thanks to Dr Huger for the welcome he gave us in his laboratory.

and 24 L 2 of this species was raised without inoculation. The results for total mortality in 90 days are given in table I.

In fact, no larva presented characteristic symptoms; 20 larvae (10 L 3 and 10 L 2) became slightly transparent.

Trial 4 on *O. boas*.

A ground solution of 10 virus-infested *O. rhinoceros* L 3 was mixed with the breeding medium for 36 *O. boas* larvae (20 L 3 and 16 L 2). In both cases 90 p. 100 mortality was obtained in 3 weeks and 100 p. 100 in 60 days, unquestionably due to the virus.

Trial 5 on *O. boas*.

This trial included three objects :

- 1) 40 inoculated *O. boas* L 3 in a medium containing 10 virus-infested *O. boas* L 3 ground up,
- 2) 20 *O. boas* L 3 inoculated in the same way, in a medium containing 20 « suspect » *O. monoceros* larvae,
- 3) 20 *O. boas* L 3 served as control.

All the larvae in the first lot died of the virus infection in 17 days. There was 80 p. 100 virosis in the second lot, but in 90 days. No case of virosis was found in the control. It appears, therefore, that *O. boas* has a good sensitivity to the virus. Diagnosis of the virosis on *O. monoceros* proved much more difficult to make; the number of « suspect » individuals remained small in spite of the long periods of observation. These « suspect » *O. monoceros* larvae could transmit the germ but with much less virulence.

Trial 6 on *O. boas* and *O. monoceros*.

This trial comprised 6 objects :

- 1) 40 *O. monoceros* L 2 inoculated,
- 2) 20 *O. monoceros* L 3 inoculated,
- 3) 20 *O. boas* L 3 inoculated,
- 4) 20 *O. monoceros* L 3 : uninoculated control,
- 5) 20 *O. boas* L 3 : uninoculated control,
- 6) 40 *O. monoceros* L 2 : uninoculated control.

The breeding medium of the inoculated lots contained a ground solution of 25 virus-infested *O. boas* L 3. The total mortality results are given in table II.

In spite of an effect of about 70 p. 100 due to the inoculation, there was no characteristic case of virosis, and the « suspect » cases represented 3-4 p. 100 of the larvae for *O. monoceros*. It only took 20 days to arrive at 100 p. 100 mortality for *O. boas* larvae, whereas only 70 p. 100 mortality was obtained in 3 or 4 months with *O. monoceros*.

Trial 7 : Inoculations on *O. monoceros* using presumed virus-infested *O. monoceros* larvae.

The principle consisted in making a series of inoculations on *O. monoceros* larvae with very heavy doses of inoculum. Only larvae with good transparency were retained as presumably virus-infested. No more than a score were obtained after inoculation of several hundred larvae. The method was to raise the larvae for a week, with for sole nourishment the equivalent of one quarter of the body of an *O. monoceros* larva resumed to be virus infected, added to an equal volume of the breeding medium. A total of 80 young L 3 of *O. monoceros* were tested in this way, being compared with 40 other larvae inoculated in the same way but with a medium containing virus-infested *O. boas* larvae. A lot of 40 young *O. monoceros* L 3 was raised by the same method, but without viral material in the medium. Cumulative mortality in 90 days was as follows :

L 3 <i>monoceros</i> , inoculated with <i>monoceros</i> viral material	80 p. 100
effect adjusted	64 p. 100
L 3 <i>monoceros</i> with <i>boas</i> viral material	85 p. 100
effect adjusted	73 p. 100
L 3 <i>monoceros</i> uninoculated	45 p. 100

There was no case of typical symptoms. The adjusted effect obtained allows it to be thought that the virus can only evolve normally on a few very sensitive individuals but that, at a heavy dose, it can weaken the *O. monoceros* larvae. The passage of the virus on *O. monoceros* does not lead to an adaptation of the virus, the virulence being no greater afterwards. Indeed, it would seem that a reduction in the virulence of the parasite has been noted after its passage on *O. monoceros*.

Trial 8 : Comparison of sensitivity to the virus of *O. monoceros* and *O. boas* larvae in mass breeding conditions. Incidence of the virus on inoculated individuals having reached the imaginal stage.

The object of the trial was to make a final comparison of the two African species in mass breeding conditions where handling of the insects was reduced to monthly frequency (in the other trials the larvae were examined each day). The breeding medium of the inoculated lots included a number of ground up bodies of *O. boas* L 3 equal to the number of larvae raised, but the concentration was relatively lower than in the preceding trials, as an average of 1 litre of medium per larva was used instead of 150 ml as in the individual breeding. The recipients used were 10 and 25 l buckets.

A. — Results on *O. boas*.

120 L 3 were raised in an inoculated medium and 55 L 3 in a medium without viral material. At the end of 90 days almost total mortality is observed (Table III).

The two nymphs obtained in the inoculated object died. The 43 nymphs produced in the control gave 37 normal adults.

B. — Results on *O. monoceros*.

210 L 3 were inoculated and 75 served as a control. Even at the end of 4 months mortality remained very low (Table IV).

In the inoculated object 109 nymphs were obtained (52 p. 100) against 45 (60 p. 100) in the control. These nymphs gave 32 adults, including 15 female in the inoculated lot and 21 adults, with 10 females in the control lot. Total mortality was therefore 85 p. 100 in the treated lot against 72 p. 100 in the control; adjusted mortality did not reach 50 p. 100. In both cases the progeny of the first 100 eggs laid was examined. They gave 28 L 3 in the lot from the inoculated object and 31 L 3 in the lot from the control. No virosis was noted in this generation. This trial confirms the preceding results and shows that adults developed from larvae raised in a virus-infested medium have a normal progeny.

A few trials have been carried out on a third species present in the Ivory Coast : *O. ovariensis*, although it has no economic incidence on the coconut. As regards its sensitivity to the virus this species has proved intermediary to *O. monoceros* and *O. boas*.

CONCLUSION

Trials of inoculation with the virus *Rhabdionvirus oryctes* Huger have shown reasonably good sensitivity of the species *O. boas* but poor sensitivity of *O. monoceros*.

The virus has no doubt the effect on the latter species, by far the most important in the West African coconut groves, of weakening the larvae and making them more sensitive to other natural mortality factors. However, the virus certainly cannot manage to develop normally, because the characteristic symptoms of the disease appear very rarely and the adults developed from the inoculated larvae present no anomalies. Moreover, this last point has been shown up by electron microscope examinations carried out at Darmstadt. Thus, the virus does not seem to be able to adapt itself on *O. monoceros*. Contrary to what has been found in West Samoa with *O. rhinoceros*, it does not appear possible to control *O. monoceros* by disseminating the virus. On the other hand, this method could give good results with *O. boas*, but the economic importance of this insect does not justify such an attempt.

